

**Aus dem Institut für Veterinär-Pathologie des Fachbereichs
Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin**

**Untersuchungen über die
Skelettentwicklung bei Kaninchenfeten
unter dem Einfluß einer chronischen
Hypervitaminose D₃ der Muttertiere**

**Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Grades eines Doktors
der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Magdy Hassan Hafiz Kadri aus Cairo/Ägypten
B.V.Sc., M.V.Sc.
Berlin 1978
Journal-Nr. 955**

Untersuchungen über die Skelettentwicklung
bei Kaninchenfeten unter dem Einfluß einer
chronischen Hypervitaminose D₃ der Muttertiere

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Grades eines Doktors
der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von .
Magdy Hassan Hafiz Kadri aus Cairo/Ägypten
B.V.Sc., M.V.Sc.
Berlin 1978
Journal-Nr. 955

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Vorsitzender des FBR:

Prof. Dr. H.-H. Frev

Referent:

Prof. Dr. K. Dämmrich

Korreferent:

Prof. Dr. D. Krause



Tag der Promotion:

1. Dezember 1978

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
EINLEITUNG	4
SCHRIFTTUM	5
Pathogenese der chronischen Hypervitaminose D	5
Chronische Hypervitaminose D der Muttertiere als Ursache von Fetopathien	7
EIGENE UNTERSUCHUNGEN	13
A. Versuchsanordnung	13
B. Untersuchungstechnik	15
C. Untersuchungsergebnisse	16
1. Muttertiere	16
2. Feten	21
DISKUSSION	39
ZUSAMMENFASSUNG	44
SUMMARY	45
LITERATURVERZEICHNIS	46

E I N L E I T U N G

Die Pathogenese der chronischen Hypervitaminose D bei Tieren ist durch zahlreiche Untersuchungen bekannt. Auch die Regulationsvorgänge, die vom Parathormon und vom Calcitonin gesteuert werden, sind bei hyperkalzämischen Zuständen wiederholt untersucht worden.

Demgegenüber sind die Folgen einer chronischen Hypervitaminose D der Muttertiere für die fetale Skelettentwicklung bisher weniger untersucht worden. Die im Schrifttum vorliegenden Untersuchungsergebnisse sind widersprüchlicher Art. Daher soll in der vorliegenden Arbeit versucht werden, im Experiment bei Kaninchen die Störungen der fetalen Entwicklung durch eine chronische Hypervitaminose D zu erzeugen und deren Pathogenese abzuklären.

S C H R I F T T U M

Pathogenese der chronischen Hypervitaminose D

Die Folgen einer chronischen Hypervitaminose D in Form von metastatischen Verkalkungen der inneren Organe und von Skelettveränderungen sind seit langem bekannt und bei Säugern, Vögeln und Reptilien untersucht worden.

In der Pathogenese der Veränderungen spielt die Hyperkalzämie bzw. hyperkalzämische Stoffwechsellage eine zentrale Rolle, die von den Metaboliten des Vitamin D, 25-Hydroxycholecalciferol und 1,25-Dihydroxycholecalciferol, verursacht wird. 1,25 Dihydroxycholecalciferol fördert die enterale Resorption von Ca und hat vermutlich einen die Ca-Retention fördernden Einfluß auf die Niere. Das 25-Hydroxycholecalciferol dagegen bewirkt über eine Förderung des Knochengewabsabbaues die Freisetzung von Ca aus dem Skelett, die synergistisch durch das Parathormon noch verstärkt wird. Auch 21, 25- und 1,25-Dihydroxycholecalciferol sollen an der Freisetzung von Ca aus dem Skelett beteiligt sein (Lit. bei BATHEPETERS, 1977).

Die chronische Hypervitaminose D stört mit der hyperkalzämischen Stoffwechsellage nachhaltig die Ca-Homöostase und deren Regulation durch Epithelkörperchen und C-Zellensystem. Den Ca-Serumspiegel senkend wirkt das Calcitonin. Calcitonin hemmt die Synthese und Freisetzung lysosomaler Enzyme aus den knochenabbauenden Zellen und unterbindet, damit die Freisetzung von Ca aus dem Skelett. Die enterale Ca-Resorption wird über eine Synthesehemmung von 1,25-Dihydroxycholecalciferol in der Niere herabgesetzt. Die renale Ca-Ausscheidung ist vermehrt. Entsprechend wird bei einer hyperkalzämischen Stoffwechsellage eine Aktivierung des C-Zellensystems und eine vermehrte Calcitonin-

ausscheidung beobachtet (HACHMEISTER et al., 1967; HACHMEISTER, 1968; LIETZ, 1970; YOUNG u. CAPEN, 1970/71; COOPER et al., 1971). Der Antagonist des Calcitonins ist das Parathormon. Das Parathormon wirkt den Serum-Ca-Spiegel erhöhend, indem es in seiner ossären Wirkung den zelligen Abbau des Knochengewebes mit Freisetzung von Ca aus dem Skelett fördert. Über Stimulation der 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Synthese wird die enterale Resorption von Ca im Dünndarm verbessert und in der Niere die Ca-Ausscheidung herabgesetzt. Durch eine hyperkalzämische Stoffwechsellage wird die Parathormonausschüttung herabgesetzt und die Epithelkörperchen zeigen Anzeichen einer zunehmenden Inaktivierung (CAPEN et al., 1965; ALTENÄHR u. LIETZ, 1970; LIETZ, 1970).

Die bei der chronischen Hypervitaminose D auftretende Hyperkalzämie zeigt im periodischen Wechsel exzessive Steigerungen des Ca-Serumspiegels abwechselnd mit fast der Norm angenäherten Werten. Diese Schwankungen werden mit dem Antagonismus von Parathormon und Calcitonin zu erklären versucht. In der ansteigenden Phase der Hyperkalzämie werden die Epithelkörperchen inaktiviert. Die zunehmende Ausschüttung von Calcitonin führt anschließend zum Absinken des Serum-Ca-Spiegels mit abnehmender Aktivität des C-Zellensystems und Reaktivierung der Epithelkörperchen, die ein erneutes Ansteigen des Serumkalziumspiegels nach sich zieht. Entsprechend diesen Wechselwirkungen sind die am Knochengewebe auftretenden und durch Abbau- bzw. Anbauvorgänge gekennzeichneten Veränderungen (Lit. bei DÄMMRICH, 1963) zu interpretieren. Die Abbauphase entspricht der ansteigenden Hyperkalzämie mit einer Verstärkung der abbauenden Wirkung des 25-Hydroxycholecalciferols durch Parathormon. Die Anbauphase dagegen wird von der vermehrten Calcitoninausschüttung mit Sistieren des Knochengewebssabbaues und erhöhter Osteoblastentätigkeit in der Phase des absinkenden Ca-Serumspiegels gekennzeichnet (BATHE-PETERS, 1977).

Verhältnismäßig unbeeinflusst bleibt dagegen die Ausbildung der metastatischen Verkalkungen über die gesamte Einwirkungszeit der chronischen Hypervitaminose D. In der Lokalisation der Kalkablagerungen bestehen tierartliche Unterschiede; Hunde und Schweine zeigen Kalkablagerungen vor allem in den inneren Organen, Ratten, Kaninchen und Katzen vor allem im Gefäßsystem. Auch in der Empfindlichkeit gegenüber Vitamin D bestehen tierartliche Unterschiede, die Empfindlichkeit nimmt in der Reihenfolge Katze, Kaninchen, Ratte, Schwein und Hund ab (Lit. b. DÄMMRICH, 1963).

Die Pathogenese und Morphologie der chronischen Hypervitaminose D bei jungen und erwachsenen Tieren ist gut bekannt. Unklarheiten bestehen dagegen über die Folgen einer chronischen Hypervitaminose D während der Trächtigkeit auf die Entwicklung der Feten.

Chronische Hypervitaminose D der Muttertiere als Ursache von Fetopathien

1930 haben COLLAZO, RUBINO u. VARELA darauf hingewiesen, daß Ratten, die täglich 5 mg bestrahltes Ergosterin erhielten, mißgestaltete Zwergtiere als Nachkommen hatten. Die von Geburt an sehr kleinen Tiere zeigten kurze, verdickte und verkrümmte Extremitäten, eine kyphotische Wirbelsäule sowie einen unverhältnismäßig großen Kopf und Schwanz. Der Wachstumsknorpel und die Fontanelle verkalkten sehr frühzeitig. Dagegen sah CENTANNI (1930) bei Ratten mit schweren Plazentaschäden normal entwickelte Feten, soweit diese nicht resorbiert oder abortiert worden waren.

Erst später ist die Frage der durch eine Hypervitaminose D induzierten Fetopathien wieder aufgegriffen worden.

1962 hat POTVLIEGE Ratten vom 12. Tag der Trächtigkeit an mit 20.000 bzw. 40.000 I.E. Vitamin D₂ behandelt und die Feten am 21. Tag untersucht. Die Feten wiesen niedrigere Gewichte auf, zeigten aber sonst keine Veränderungen. Lediglich die Epithelkörperchen waren wie bei den Muttertieren verkleinert. Die Plazenta war atrophiert und zeigte regressive Veränderungen und Verkalkungen in dem in vermehrten Maße gebildeten Glykoproteid in den Zotten der Allantois. POTVLIEGE nimmt an, daß auch bei den Feten durch die Hyperkalzämie des Muttertieres eine hyperkalzämische Stoffwechsellaage entsteht, die die Epithelkörperchen inaktiviert, aber nicht so ausgeprägt ist, daß es zu metastatischen Kalkablagerungen in den Organen kommt.

CAPEN, COLE u. HIBBS (1966) behandelten im 3. bis 9. Monat trächtige Kühe über 7 bis 30 Tage lang mit täglich 30 Millionen I.E. Vitamin D. 0 - 4 Tage nach Abschluß der Behandlung wurden die Kühe getötet. Es bestanden ausgedehnte metastatische Verkalkungen, insbesondere auch in den Plazentomen. Die Feten wiesen aber keine Veränderungen, insbesondere Verkalkungen, auf. Lediglich bei zwei Kälbern waren Faser- und Matrixvermehrungen im Endokard der linken Herzkammer anzutreffen.

1968 berichtet das American Institute of Health, daß beim Kaninchen schon nach gering toxischen Dosen Neugeborene mit Gefäßverengungen, Hyperkalzämie und Zahnschmelzdefekten geboren werden; auch bei menschlichen Säuglingen von Müttern, die während der Gravidität zu viel Vitamin D eingenommen hatten, traten supra- und subaortale Aortenstenosen und Störungen der Zahnung auf (zit. nach BEKEMEIER u. PFENNIGSDORF, 1974). Schon 1966 hatten BEUREN u. Mitarbeiter auf eine beim Menschen vorkommende Hypersensibilität gegen Vitamin D hingewiesen und sie ätiologisch mit dem Krankheits-syndrom der idiopathischen Hyperkalzämie und der supra- und subaortalen Aortenstenose in Zusammenhang gebracht. Im

Experiment konnten sie bei jungen Ratten und Kaninchen durch Vitamin D-Gaben Gefäßveränderungen mit Kalkeinlagerungen erzeugen, die Ähnlichkeit mit der supralvalvulären Aortenstenose hatten. Ähnliche Befunde wie beim Hyperkalzämie-Syndrom des Menschen fanden FRIEDMAN u. MILLS (1969) bei neugeborenen Kaninchen, deren Mütter während der Trächtigkeit insgesamt 750.000 I.E. Vitamin D₂ erhalten hatten. Sie stellten bei den neugeborenen Kaninchen Gefäßveränderungen, entsprechend der supralvalvulären Aortenstenose, vorzeitigen Schluß der Fontanellen und Nähte sowie Struktur-anomalien des Gesichtsschädels und Zahnveränderungen, wie Schmelzhypoplasien und brüchiges Dentin, fest.

ORNOY, NEBEL u. MENCZEL (1969) behandelten Ratten vom 9. bis 21. Tag der Trächtigkeit mit täglich 40.000 I.E. Vitamin D₂. Die Feten wiesen ein leichteres Körpergewicht auf, der Aschegehalt der Knochen war vermindert und die Diaphysenlänge der Röhrenknochen verkürzt. Das Ossifikationszentrum in der Diaphyse war kleiner und die Epiphysenfuge zeigte eine unregelmäßige Säulenstruktur mit deformierten Knorpelzellen und Einschaltung einer Übergangszone zwischen proliferierendem und hypertrophischem Knorpel. Die Metaphysen waren gekrümmt. In der verkürzten und dünnen Diaphyse erschienen die Knochenbälkchen breiter als bei den Kontrolltieren mit verringerter Anzahl von Osteoblasten und ohne Osteoklasten. Die Autoren interpretieren das Absinken des Kalziumspiegels am 21. Tag bei den Muttertieren nach einer vorhergehenden ausgeprägten Hyperkalzämie als die Folgen eines erhöhten Kalziumtransfers zum Feten, den niedrigeren Aschegehalt der Knochen mit der verzögerten Ossifikation und die gestörte Knorpelzellproliferation, ebenso wie die gesamte Hypoplasie der Feten, mit der direkten Wirkung von Vitamin D₂ auf das fetale Gewebe.

Ausgehend von dieser Beobachtung, daß durch hohe Dosen von Vitamin D₂ bei Ratten die fetale Osteogenese und das Wachstum beeinflusst werden (ORNOY, NEBEL u. MENCZEL, 1969), verabfolgte ORNOY (1971) trächtigen Ratten vom 9. bis 21. Tag der Trächtigkeit nur 20.000 I.E./die Vitamin D₂. Die Untersuchung der Feten ergab nur geringe Knochenveränderungen, die in einer Verschmälerung der Wachstums- und Eröffnungszonen in den Epiphysen sowie in einer leichten Erhöhung der osteoklastischen Aktivität an den normal erscheinenden Knochenbälkchen bestanden. Durch gleichzeitige Verabfolgung von Cortisonazetat wurden die Knochenveränderungen verstärkt. In der Pathogenese wird ein verstärkter diaplazentarer Übertritt von Vitamin D₂ durch die vorgeschädigte Plazenta diskutiert.

Die Untersuchung neugeborener Ratten von der Geburt bis 30 Tage danach in 5tägigen Abständen, deren Mütter vom 10. bis 21. Tag der Trächtigkeit täglich 20.000 bzw. 40.000 I.E. Vitamin D₂ erhalten hatten, ergab bleibende Skelettveränderungen (ORNOY, KASPI u. NEBEL, 1972). Die Tiere blieben im Wachstum zurück, zeigten Kyphosen und verkürzte Extremitäten.

Die Osteogenese in den langen Röhrenknochen war geschädigt, die Verknöcherung der Epiphysen sistierte und in der Diaphyse fanden sich persistierende enchondrale Knochenbälkchen. Die diaphysäre Corticalis war dünn mit unregelmäßig angeordneten Lamellen. Multiple Frakturen mit unvollständiger Frakturheilung kamen vor. Die Befunde entsprechen der bei Feten beobachteten Schädigung der Osteogenese, die mit einer Verminderung des Aschegehaltes in den Knochen einhergeht (ORNOY, MENCZEL u. NEBEL, 1967; ORNOY, NEBEL u. MENCZEL, 1969). Dabei wird die schwere Schädigung der Plazenta durch Vitamin D₂ für die Hypoplasie und geringe Lebensfähigkeit der Feten verantwortlich gemacht. Die Anomalien der Osteogenese werden dagegen auf die direkte

Schädigung des Osteoblastems durch Vitamin D₂ zurückgeführt, die sich in Unreife der Osteoblasten mit verminderter Knochengewebsbildung manifestiert. Diskutiert wird von ORNOY, KASPI u. NEBEL (1972) weiterhin, ob die Wirkung des Vitamin D₂ nicht nur am Osteoblastem, sondern am gesamten Mesenchym manifest wird, wie z.B. die supravulvuläre Aortenstenose, Zahnanomalien und Fehlentwicklungen des Gesichtsschädels (FRIEDMANN u. ROBERTS, 1966; FRIEDMANN u. MILLS, 1969) und Anomalien der Kopfhaut (TSHIBANGU et al., 1975) zeigen, so daß in der Phänokopie Ähnlichkeiten mit der genetisch bedingten Osteogenesis imperfecta entstehen.

TSHIBANGU, OOSTERWIJK u. DOUMONT-MEYVIS (1975) verabfolgten Ergocalciferol (320.000 - 480.000 I.E./kg) mit Cholesterol (60 mg/kg) täglich an 1, 2 oder 4 aufeinander folgenden Tagen an trächtige Ratten am 9., 10., 14. oder 18. Tag der Trächtigkeit. Neben regressiven Veränderungen und Verkalkungen wurde an der Plazenta ein vermindertes Größenzwachstum festgestellt. Die Feten waren hypoplastisch. Im Skelett fiel eine verzögerte Ossifikation, das Fehlen von Schwanzwirbeln und eine fehlerhafte Rippenform auf. Während SIMONART (1967) annimmt, daß Vitamin D oder seine Metaboliten nicht die Plazentaschranke passieren können und die Schädigung des Fetus durch die Hyperkalzämie des Muttertieres erfolgt, halten TSHIBANGU und Mitarbeiter eine direkte Schädigung des Fetus auch durch Calciferol oder seinen aktiven Metaboliten 1,25-Dihydroxychelocalciferol für möglich.

ZANE (1976) untersuchte den Einfluß einer experimentellen Hypervitaminose D (50.000 I.E. täglich vom 4. - 7. Tag der Trächtigkeit) bei Mäusen auf die Entwicklung der Embryonen im ersten Drittel der Trächtigkeit. Er fand keine erhöhte Resorptionsrate sowie keine erhöhte Mortalität oder erniedrigte Körpergewichte bei den Neugeborenen.

Allerdings war die Zahl der Muttertiere mit mißgebildeten Feten erhöht. Im Vordergrund stand die Mikrocephalie. Weiterhin war die Verknöcherung des Skeletts verzögert.

E I G E N E U N T E R S U C H U N G E N

A. VERSUCHSANORDNUNG

Als Versuchstiere dienten 29 weibliche Kaninchen des institutseigenen Stammes der Rasse Russenkaninchen. Die Tiere waren bei Versuchsbeginn zwischen 6 und 18 Monate alt.

Die Kaninchen wurden in Einzelhaltung auf Drahtrosten gehalten und ausschließlich mit pelletiertem Alleinfutter (Wz. Altromin K) gefüttert.

Die Kaninchen wurden zweimal an zwei aufeinanderfolgenden Tagen gedeckt; 7 Tage nach dem letzten Deckakt setzte die Vitamin D₃-Verabfolgung ein. Die Dosierungshöhe betrug 20.000 I.E. Vitamin D₃ täglich. Das Vitamin D₃ wurde in einer emulsionsfähigen Form über das Trinkwasser verabfolgt. Nach 20tägiger Behandlung erfolgte die Tötung der Versuchstiere.

Von den 29 Kaninchen waren 4 nicht tragend, 4 hatten zwischen 23. und 26. Tag abortiert und 21 waren mit 2 bis 4 Feten tragend.

Tabelle 1: Tiermaterial

Tabelle 1:

Tiernummer	Zahl d. Feten	Bemerkungen
379	nicht tragend	getötet
380	" "	"
394	" "	"
402	" "	"
361	2	"
368	3	"
385	2	"
435	3	"
446	4	"
450	3	"
460	3	"
461	3	"
462	4	"
464	4	"
465	3	"
466	2	"
467	2	23. Tag Abort
470	2	25. Tag Abort
471	2	getötet
472	3	"
473	3	"
474	2	"
475	2	"
476	3	"
477	3	"
479	3	"
481	2	26. Tag Abort
488	2	getötet
489	2	26. Tag Abort

B. UNTERSUCHUNGSTECHNIK

Nach der Tötung wurden von den Muttertieren die Nieren, Uterus mit Plazenta, Epithelkörperchen sowie Humerus und 7. Rippe entnommen. Die Feten wurden einzeln untersucht, für die histologische Untersuchung Epithelkörperchen, Nabelstrang, Aorta, Niere, Lunge, Myokard, Magen, Leber, Gehirn sowie Humerus und Femur präpariert.

Die Fixation erfolgte in 7 %igem neutralem Formalin oder in Glutaraldehyd (Epithelkörperchen). Die Weichgewebe wurden in Paraplast eingebettet und die 7 µm dicken Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt bzw. die Kalkablagerungen nach der Methode von KOSSA nachgewiesen. Die Knochen wurden elektrolytisch nach der Methode von ROMEIS entkalkt und nach Einbettung in Paraplast gleichfalls mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

C. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

1. Muttertiere

Die Untersuchung der Muttertiere erfolgte, um den Erfolg der langzeitigen Hypervitaminose D₃ zu kontrollieren. Bei der Sektion zeigten alle Muttertiere ausgedehnte Intimaverkalkungen in der Aorta. Das Ausmaß der metastatischen Kalkablagerungen wurde an der Niere sowie am Uterus mit Placenta maternalis und fetalıs festgestellt.

a) Metastatische Organverkalkungen

Nieren

Die Kalkablagerungen treten herdförmig begrenzt in den kapselnahen Abschnitten der Nierenrinde auf. In den Herden steht die Kalkablagerung in den Arteriolen, weniger in den Aufzweigungen der Arteriae radiatae im Vordergrund. Daneben finden sich Kalkablagerungen in den Basalmembranen der Bowman'schen Kapseln der Glomerula sowie der proximalen Hauptstücke. In geringerem Umfang sind einzelne Epithelzellen der Hauptstücke mit körnig-scholligen Kalkablagerungen imprägniert. Auffallend ist im Bereich der Verkalkungsherde eine herdförmige Verquellung des glomerulären Mesangiums, die zumeist mit einer Eiweißdiathese einhergeht. Die Hauptstücke sind dabei erweitert und zeigen ein abgeflachtes Epithel.

Die Intensität der metastatischen Kalkablagerungen war in den Nieren nicht gleichmäßig innerhalb der Versuchsgruppe ausgebildet.

Nur einzelne Verkalkungsherde zeigten die Tiere 379, 380, 394, 402, 361, 368, 435, 450, 460, 461, 462, 464, 465, 474, 475, 479 und 489.

In größerer Anzahl kamen Verkalkungsherde bei folgenden Tieren vor: 481, 385, 446, 466, 467, 470, 471, 472, 473, 476, 477 und 488.

Uterus und Plazenta

Die metastatischen Kalkablagerungen betreffen im graviden Uterus vor allem die Plazenta, nur in 3 Fällen auch den Uterus.

In der Placenta haemochoriales des Kaninchens treten Kalkablagerungen zuerst in der Verbindungszone zwischen fetaler und maternaler Plazenta auf. Die Kalkablagerungen sind von schollig-krümeliger Struktur, wobei eine Bindung des Kalks an die dort sezernierten Mukopolysaccharide erfolgt. In zweiter Linie treten intrazelluläre Kalkeinlagerungen in den Riesenzellen und in großen Zellen sowohl des chorialen Trophoblasten als auch der oberflächlichen Decidua auf.

Verkalkungen finden sich weiterhin in der Wandung der intervillösen Räume, zum Teil als Ablagerung in der herdförmig verdickten Endothellage, aber auch intrazellulär in zugrunde gehenden oberflächlichen Zellen des chorialen Syncytiums, wobei kleine Aggregationskonkremente entstehen. In der Decidua und in den Chorionzotten werden Kalkablagerungen in die Kapillarwände beobachtet. In den Chorionzotten und in der Chorionplatte verkalken in kleinen Arterienästen Intima und Media.

Das Ausmaß der Verkalkungen ist unterschiedlich. Es reicht von einzelnen kleineren Verkalkungsherden bis zu ausgedehnten, die gesamte Verbindungszone einnehmenden Formen. Dabei ist vielfach zu beobachten, daß die ausgedehnteren Verkalkungen mit Zirkulationsstörungen einhergehen. Diese zeigen sich als Ödeme und herdförmige Blutungen in den Chorionzotten und in der oberflächlichen Decidua. Dabei kommt es zur Dissoziation und Nekrobiose der Zellen des chorialen Syncytiums und der Decidua. In diesen Fällen ist vielfach die Verbindungszone durch Ansammlung von Exsudat und Blut verbreitert und entspricht einer beginnenden Plazentaablösung.

In den 3 Fällen mit Verkalkungen im Uterus bestehen vor allem herdförmige Kalkablagerungen im Endometrium, wobei das Oberflächenepithel und das Drüsenepithel intrazelluläre Verkalkungen neben der Kalkimprägnation der verbreiterten Basalmembran zeigen. Daraus entstehen kleinere verkalkte Nekrosen. Im Myometrium liegt herdförmig eine Faserverkalkung vor, wobei nach Fasernekrobiosen Kalkgranulome entstehen.

Geringgradige und nur auf die Plazenta beschränkte Kalkablagerungen kommen bei den Kaninchen 361, 450, 462, 467 und 476 vor. Stärker ausgeprägte Verkalkungen in der Plazenta konnten bei folgenden Tieren nachgewiesen werden: 368, 435, 446, 460, 461, 464, 465, 466, 471, 473, 475, 477, 479, 488 und 489. Die Tiere 472, 474 und 481 zeigten Verkalkungen in Plazenta und Uterus.

b) Skelettveränderungen

Exemplarisch wurden zur Kontrolle der skelettogenen Wirkung der chronischen Hypervitaminose D₃ der Humeruskopf und ein Rippenquerschnitt der Tiere 361, 368, 379, 380, 385, 394 und 402 untersucht.

Übereinstimmend ergaben sich folgende Befunde: Das Periost zeigt eine ausgeprägte Verkalkung der in die kortikale Oberfläche einstrahlenden Fasern, wobei durch die gleichzeitige Abscheidung basophiler Proteoglykane auf der Oberfläche der Corticalis des Humerus und noch ausgeprägter der Rippenkompakta eine breite, zum Teil wie ein Osteophyt erscheinende Lage basophilen Knochengewebes entsteht, die Osteozyten in basophil konturierten Lakunen einschließt. Auch die endostale Oberfläche der Knochen wird durch eine schmale basophile Lamelle abgedeckt. Das gilt für die Innenauskleidung der Havers'schen Kanäle, wie für die Oberfläche der Spongiosabälkchen. An den Spongiosabälkchen und an der Innenseite der Corticalis bzw. Kompakta ist abschnittsweise die basophile Anschichtung durch osteoides Knochengewebe abgedeckt. Einzelne Osteoklasten kommen in flachen Lakunen an den Spongiosabälkchen vor. Herdförmig besteht eine fasrig-fibrozytäre Endostverbreiterung. Im Bereich der Endostverbreiterungen sind gleichfalls einzelne Faserzüge verkalkt, wobei die darunterliegende basophile Anschichtung besonders breit erscheint.

c) Funktionszustand der Epithelkörperchen

Die Untersuchungsergebnisse beziehen sich auf die Parathyreoidea III.

Bei den unbehandelten Kaninchen ist das Parenchym der Epithelkörperchen deutlich lobuliert oder die Zellen ordnen sich in mehrreihigen Zellsträngen an. Lobuli und Stränge werden von Kapillaren begrenzt. Das Zellbild wird beherrscht von hellen Hauptzellen. Diese zeigen ein wabig-vakuoläres Zytoplasma und große abgerundete Zellkerne mit einem lockeren Chromatingerüst und kleinen Nucleoli. Dazwischen eingestreut treten einzelne dunkle Hauptzellen auf, deren Zellkerne dichter chromatinisiert sind und deren Zytoplasma sich schwach eosinophil granuliert anfärbt.

Bei den mit Vitamin D₃ behandelten Muttertieren steht die Zelltransformation im Vordergrund. Die hellen Hauptzellen sind weitgehend geschwunden. Sie treten nur noch als Einzelzellen in den Lobuli in Erscheinung. Die Hauptmasse des Parenchyms wird von dunklen und ruhenden Hauptzellen gebildet, die infolge der Größenabnahme des Zytoplasmas eine sehr dichte Kernlagerung zeigen. Die dunklen Hauptzellen besitzen ein schwach eosinophil granuliertes Zytoplasma. Der abgerundete Zellkern ist dichter granulär chromatinisiert und mit einem deutlichen Nucleolus versehen. Die ruhenden Hauptzellen weisen eine verstärkte Anfärbbarkeit des Zytoplasmas mit Eosin auf. Der Zellkern ist unregelmäßig rundlich geformt und meistens dichter chromatinisiert als der der dunklen Hauptzellen. Zwischen dunklen und ruhenden Hauptzellen bestehen fließende Übergänge. Ohne feste Regel konnte bei den Muttertieren bald ein Überwiegen der ruhenden Hauptzellen, bald ein Überwiegen der dunklen Hauptzellen festgestellt werden.

Vor allem im Hilusbereich treten weiterhin syncytiale Zellen auf. Die Zellen mit kleinem sich intensiv eosinophil anfärbendem Zytoplasma zeigen kleine, unregelmäßig gestaltete und dichtschrillig chromatinisierte Zellkerne. Sie bilden in mehrreihiger strangförmiger Anordnung dichte Zellverbände ohne deutlich sichtbare Zellgrenzen.

An den Epithelkörperchen der behandelten Muttertiere erscheint die Organkapsel dicker als bei den unbehandelten Tieren. Stellenweise treten dazu bindegewebig verbreiterte Septen in den Epithelkörperchen auf.

2. Feten

a) Metastatische Organverkalkungen

Von den Feten wurden entweder einzelne Organe oder Querschnitte durch den ganzen Tierkörper in der Brust- und Bauchregion untersucht. Insbesondere wurde in den folgenden Organen auf das Vorkommen von Kalkablagerungen geachtet: Leber, Lunge, Niere, Aorta, Gehirn, Myokard und Magen.

Durch die histologische Untersuchung konnten in keinem Fall Kalkablagerungen in den inneren Organen festgestellt werden.

b) Skelettveränderungen

Untersucht wurden Humerus und Femur aller Feten eines Wurfes. Die Unterschiede im Entwicklungsstand des Skeletts zwischen den Feten eines Wurfes, insbesondere bei den Feten der behandelten Muttertiere, waren so geringfügig, daß sie bei der Darstellung vernachlässigt werden konnten.

Humerus und Femur der Feten unbehandelter Muttertiere

Die proximalen und distalen Epiphysen von Humerus und Femur sind noch rein knorpelig. Sie sitzen kalottenförmig der gegenüber der Diaphyse größeren Metaphyse auf.

Die Oberfläche der Epiphysen wird von einem zelldichten Chondroblastem gebildet. Die oberflächlichen Chondrozyten sind abgeplattet. Durch die zelldichte Lagerung sind interzelluläre Matrix oder Zellhöhlen nicht erkennbar. Nach innen nehmen die Knorpelzellen allmählich an Größe zu, die Zellkerne runden sich ab und zwischen den Zellen wird Matrix sichtbar. In den Epiphysen erscheint das Knorpelgewebe ballenförmig gegliedert, da netzartig angeordnete Knorpelzellzüge, die in Verbindung mit dem oberflächlichen Chondroblastem stehen, die Epiphyse durchziehen. In den Zellzügen sind die unterschiedlich großen Knorpelzellen in mehrzelligen Chondronen mit großen basophil konturierten Zellhöhlen ausgebildet. Diese Knorpelzellen zeigen unregelmäßig rundliche und dicht chromatinisierte Zellkerne in einem basophil erscheinenden Zytoplasma, das auch einzelne Vakuolen enthalten kann. Um die Chondrone ist die Matrix verstärkt basophil. Die Zellzüge umschließen Areale mit schwächer basophiler Matrix. Die Zellhöhlen sind weiter und enthalten stärker geschrumpft erscheinende Chondrozyten. In den proximalen Epiphysen von Humerus und Femur werden um einen zentralen Knorpelkanal die Chondrozytenhöhlen erweitert und die Knorpelzellen gehen zugrunde: Blasenknorpel.

Die netzartig angeordneten Knorpelzellzüge formieren sich am Übergang der Epiphyse in die Metaphyse zur Proliferationszone der Epiphysenfuge. Die Säulenstruktur der Epiphysenfuge ist noch etwas unregelmäßig. Deutlich ist aber die Gliederung in Proliferations- und Reifungszone sowie in Blasenknorpel. Die schmalen und apfelsinenscheibenförmig übereinander liegenden Knorpelzellen der Proliferationszone gehen unter Zellvergrößerung in den Abschnitt der reifenden Knorpelzellen über. Daran schließt sich unter Verkalkung der Matrix, blasiger Degeneration der Knorpelzellen und Auftreten von Granula in den Knorpelzellhöhlen der Blasenknorpel an. Proliferations- und Reifungszone sowie Blasenknorpel verhalten sich wie 2 : 1 : 1.

Die Knorpelzellsäulen werden einzeln eröffnet, wobei der Abbau der verkalkten Knorpelmatrix überwiegend durch ein-kernige Chondroklasten erfolgt. Die interkolumnare Matrix bleibt in Form langer Knorpelrichtungspfeiler stehen. In einigem Abstand von der Eröffnungszone wird die Anzahl der Knorpelrichtungspfeiler durch Abbau reduziert. Aus den stehenbleibenden werden unter Apposition von Knochengewebe primäre Spongiosabälkchen, die bis in die Diaphyse durchlaufen. An ihren diaphysären Enden enthalten sie Einschlüsse des diaphysären Knorpelgewebes. Ein bälkchenfreier diaphysärer Markraum besteht nicht.

Die Corticalis von Humerus und Femur wird im metaphysären Bereich von peripheren Spongiosabälkchen gebildet, die als einschichtige Lamellenlage an das Periost grenzen. Vom Periost wird abschnittsweise in flacher Lage osteoides Knochengewebe angelagert. Die metaphysäre Lamelle geht kontinuierlich in die diaphysäre Corticalis über. Diese besteht in der Diaphysenmitte aus etwa 8 - 10 Tangentiallamellen, die in Verbindung mit den Radiärlamellen ein weitmaschiges Lamellengeflecht mit weiten Havers'schen Räumen bilden. In den Havers'schen Räumen erfolgt noch

keine lamelläre Anschichtung von Knochengewebe, obgleich sie von großen kubischen Osteoblasten austapeziert sind. Nur sehr vereinzelt werden mehrkernige Osteoklasten gesehen. Das Knochengewebe ist vollständig mineralisiert und enthält in weiten Lakunen große Osteozyten. Nur die oberflächlichen an das Periost angrenzenden Lamellen werden durch Apposition von Knochengewebe mit schmalen osteoiden Säumen verlängert. Das Periost ist deutlich zweischichtig. Das aufgelockerte und faserärmere Kambium wird von der straffen Fibro-Elastica abgedeckt.

Humerus und Femur der Feten mit Vitamin D₃ behandelter Muttertiere

Die bei den Versuchstieren gegenüber den Kontrollen verkürzten Röhrenknochen zeigen kleine rein knorpelige Epiphysen, die sich mit einem aus Knorpelgewebe bestehenden Hals in die Diaphyse fortsetzen. Dabei haben Hals und Diaphyse den gleichen Durchmesser.

Die Oberfläche der Epiphyse wird von einem Chondroblastem gebildet, das aus kleinen, abgeplatteten Knorpelzellen in sehr dichter Lagerung besteht. Nach innen erfolgt ein kontinuierlicher Übergang zu größeren mehrzelligen Chondronen mit weiten Zellhöhlen, die durch breitere Matrixstreifen voneinander getrennt sind. Die Chondrozyten besitzen einen rundlichen dicht chromatinisierten Zellkern in einem basophilen Zytoplasma, das einzelne feine Vakuolen enthält.

Im Hals, mit dem sich die Epiphyse in die Diaphyse fortsetzt, sind die Chondrozyten in unregelmäßiger Säulenform angeordnet. Dabei ist eine Gliederung in die Proliferationszone mit kleinen apfelsinenscheibenförmig übereinander gelagerten Knorpelzellen, in die Reifungszone mit größer

werdenden Chondrozyten sowie in den Blasenknorpel mit zugrunde gehenden Knorpelzellen in sehr weiten Zellhöhlen deutlich ausgebildet. Der gesamte Halsbereich wird vom Säulenknorpel eingenommen, wobei sich proliferierende, reifende und geblähte Säulenabschnitte wie 2 : 1 : 1 verhalten. Jede Knorpelzellsäule wird einzeln und in gleicher Höhe eröffnet.

In der Entwicklung der Epiphyse und der Epiphysenfuge bestehen zwischen den Feten der 21 behandelten Muttertiere keine Unterschiede. Dagegen bestehen Unterschiede in der Ausbildung der metaphysären Spongiosa und der Corticalis.

In der ersten Gruppe von Feten (435, 460, 467, 470, 473, 479 und 488) bleiben die Knorpelrichtungspfeiler in Fugennähe frei von angelagertem Knochengewebe. Erst in einigem Abstand von der Fuge wird Knochengewebe in schmalen Säumen angelagert, so daß die Spongiosabälkchen insgesamt auch wenig vernetzt erscheinen. An dem freien Ende der Spongiosabälkchen treten wenige mehrkernige Osteoklasten auf, die einzelne Spongiosabälkchen vom freien Ende her abbauen. Es besteht ein kleiner bälkchenfreier zentraler Markraum. Die Corticalis besteht in der Diaphysenmitte aus 3 - 4 Lagen von Tangentiallamellen, zwischen denen kurze radiäre Lamellen korrespondieren. Vielfach ist der Lamellenverlauf unterbrochen, so daß der Eindruck einer lückenhaften Lamellenbildung entsteht. In der Innenseite der Corticalis treten einzelne Osteoklasten auf, die an der inneren Tangentiallamelle flache Resorptionsbuchten hervorrufen. Die Havers'schen Räume sind weit. Das Knochengewebe erscheint gegenüber dem bei Kontrolltieren etwas vermehrt basophil. Es enthält in großen, kräftig basophil konturierten Lakunen große Osteozyten. Das an der Oberfläche in Lamellenfortsetzung in geringerer Menge gebildete Knochengewebe bleibt in seiner osteoiden Phase erhalten.

In einer zweiten Gruppe von Feten (446, 450, 476 und 489) entspricht das histologische Bild der Röhrenknochen weitgehend dem der ersten Gruppe. Unterschiede bestehen in der Menge der Osteoklasten. Sowohl an den freien Enden der Spongiosabälkchen als auch an der Markraumseite der Corticalis treten in größerer Anzahl Osteoklasten auf, die auch durch ihre Größe und Mehrkernigkeit sich von denen in der ersten Gruppe unterscheiden. Allerdings sind an der Spongiosa und an der Corticalis noch keine verstärkten Abbauerscheinungen festzustellen.

Erst in der dritten Gruppe (462, 464, 465, 471 und 474) werden die Abbauerscheinungen am Knochengewebe deutlich sichtbar. Die primären Spongiosabälkchen sind fast bis an die nackten primären Richtungspfeiler heran abgebaut, wobei vor allem perikapillär eine zarte Faserzubildung zu beobachten ist. Der Abbau kann soweit gehen, daß ein weiter diaphysärer Markraum ohne Spongiosabälkchen entsteht, der Zellen der Myelo- und Erythrozytopoese sowie weite und strotzend mit Blut gefüllte Kapillaren enthält. Zur Erweiterung des diaphysären Markraumes trägt auch der Abbau der inneren Lamellenlagen der Corticalis bei, so daß schließlich die Corticalis nur noch aus 1 - 3 Tangentiallamellen besteht, von denen die inneren auch noch vielfach durchbrochen sind. An der Innenseite der Corticalis findet sich anstelle des abgebauten Knochengewebes ein zartes Fasergewebe. Die periostale Neubildung von osteoidem Gewebe kann vollständig fehlen, nur in der Fortsetzung der Lamellen bestehen oder bis zur Ausbildung von 2 Lagen osteoider Lamellen angelegt sein.

In der vierten Gruppe (461, 466, 472, 475 und 477) zeigt das Knochengewebe ein der dritten Gruppe entsprechendes Bild. Als Besonderheiten sind ein Rückgang der Osteoklastenzahl und eine Belebung der Bildung von osteoidem Knochengewebe zu beobachten. Sowohl an den Spongiosabälkchenstümpfen als

Tier- nummer	metaphysäre Spongiosa		diaphysäre Corticalis		Bemerkungen
	Reduktion d. Spongiosa	Menge d. Osteoklasten	Zahl d. Tangential- lamellen	exzentrisch gerichteter Abbau	periostale Lamellen- neubildung
<u>Kontrolltiere:</u>					
	-	(+)	8 - 10	-	(+)
<u>Feten behandelter Muttertiere:</u>					
435	+	(+)	3 - 4	+	+
460	(+)	(+)	4	(+)	++
467	+	(+)	3 - 4	+	+
470	+	+	3 - 4	+	+
473	(+)	(+)	3 - 4	(+)	+
479	++	(+)	3 - 4	(+)	(+)
488	(+)	(+)	4	+	(+)
446	(+)	+++	5 - 6	++	-
450	-	+	5 - 6	+	++
476	(+)	++	4 - 5	+++	-
489	(+)	+	4 - 5	+	(+)
462	+	++	1 - 2	++	+
464	+	+	1 - 2	+	++
465	++	+++	2 - 3	++	-
471	+	++	2 - 3	+	++
474	+	+++	2 - 3	++	(+)
461	(+)	(+)	1 - 2	+	+
466	(+)	(+)	3	+	+
472	(+)	+	2 - 3	+	+++
475	(+)	(+)	1 - 2	+	+
477	++	+	1 - 2	+	+++
					</

Tabelle 3: Ausprägung der Skelettveränderungen bei den Feten mit Vitamin D₃ behandelter Muttertiere

auch an der Innenseite der Corticalis treten nur noch wenige Osteoklasten auf. An die Knorpelrichtungspfeiler und an die Spongiosabälkchenfragmente wird Knochengewebe angeschichtet, das die Abbaulakunen abdeckelt. An der periostalen Oberfläche der Corticalis werden in Fortsetzung bestehender Lamellen neue Lamellenlagen gebildet, die ein bis 3 Lagen stark sind. Das neugebildete Knochengewebe an den Spongiosabälkchen und an der periostalen Oberfläche der Corticalis bleibt in seiner osteoiden Phase erhalten.

In den Gruppen 3 und 4 werden Deformationen von Humerus und Femur beobachtet, die aufgrund des Abbaues des Knochengewebes entstehen. Sie liegen in der Diaphysenmitte und zeigen sich als Biegungen oder als Knickungsbrüche (Grünholzfrakturen). Für beide gilt, daß in der Innenseite des Biegungs- oder Knickungswinkels verstärkt Knochenbälkchen im Periost gebildet werden, die gleichfalls in ihrer osteoiden Phase verharren. An der Außenseite des Winkels bleibt dagegen das Periost schmal und bildet keinen Kallus aus.

c) Funktionszustand der Epithelkörperchen

Die Ergebnisse beziehen sich auf die Untersuchung der Parathyreoidea III.

Es wurde versucht, von allen Feten die Epithelkörperchen darzustellen. Insgesamt konnten in einem oder mehreren Feten von 16 Würfen die Epithelkörperchen im histologischen Schnitt beurteilt werden.

Bei den Feten unbehandelter Mütter wird das Epithelkörperchen von einer dünnen Bindegewebskapsel umschlossen. Das Parenchym ordnet sich in Zellnestern und mehrreihigen Strängen an, zwischen denen Kapillaren verlaufen. Alle Zellen

haben ein kleines Zytoplasma, so daß der Eindruck einer kerndichten Lagerung entsteht. Das Parenchym setzt sich aus hellen, dunklen und ruhenden Hauptzellen sowie syncytialen Zellen zusammen. Die hellen Hauptzellen sind die größten Zellen. Das Zytoplasma ist wabig-vakuolär. Der Zellkern groß und rund, mit einem lockeren Chromatingerüst. Die dunklen Hauptzellen zeigen ein eosinophil granuliertes Zytoplasma. Der Zellkern ist gegenüber dem der hellen Hauptzellen etwas kleiner, rundlich und mit einer verstärkten Chromatinstruktur. In den ruhenden Hauptzellen ist der Zellkern unregelmäßig rundlich geformt und sein Chromatingerüst ist deutlich schollig erkennbar. Das Zytoplasma färbt sich intensiver mit Eosin an. Die syncytialen Zellen treten in kleinen Gruppen vor allem in Kapselnähe und im Hilusbereich auf.

Das Parenchym wird überwiegend von hellen Hauptzellen gebildet. Demgegenüber treten die dunklen und ruhenden Hauptzellen sowie die syncytialen Zellen in verminderter Anzahl auf.

Bei den Feten mit Vitamin D₃ behandelten Muttertiere entspricht die Anordnung der Zellen im Epithelkörperchen denen unbehandelter Tiere. Gelegentlich besteht der Eindruck, daß die Zellnester und -stränge etwas kleiner und aus weniger Zellen zusammengesetzt sind.

An der Zusammensetzung des Parenchyms aus den verschiedenen Zelltypen ergibt sich der deutlichste Unterschied zu den Epithelkörperchen unbehandelter Feten. Bei den Feten behandelter Mütter fehlen die hellen Hauptzellen entweder vollständig oder sie treten nur als einzelne Zellen weit verstreut in den Zellnestern und -strängen auf. Dunkle und ruhende Hauptzellen bilden die Hauptmasse des Parenchyms. Dabei zeigen dunkle und ruhende Hauptzellen ein sehr kleines Zytoplasma und in den Zellkernen eine verstärkte Chromatinierung. Bei 5 Feten dominieren die dunkleren Hauptzellen, bei 4 Feten die ruhenden Hauptzellen und bei 7 Feten sind beide Zell-

arten in gleicher Menge vorhanden. Die syncytialen Zellen sind bei 10 Tieren in ihrer Anzahl vermehrt, indem besonders am Hilus des Epithelkörperchens größere Gruppen auftreten.

Tabelle 2: Beteiligung der Zellarten am Aufbau der Epithelkörperchen (Schätzwerte)

Tier- nummer	Hauptzellen			syncytiale Zellen
	helle	dunkle	ruhende	
Kontrolle	+++	+	(+)	(+)
<u>behandelte Tiere:</u>				
368	(+)	(+)	+++	+
385	(+)	(+)	+++	(+)
435	(+)	++	++	(+)
446	(+)	++	++	(+)
450	-	+++	++	+
460	+	++	+	+
461	-	+	++	++
464	(+)	++	++	+
465	(+)	++	++	+
467	+	++	+	+
470	-	+	++	+
475	+	++	+	(+)
479	+	++	+	(+)
481	-	++	++	+
488	(+)	++	++	+
489	(+)	++	++	(+)

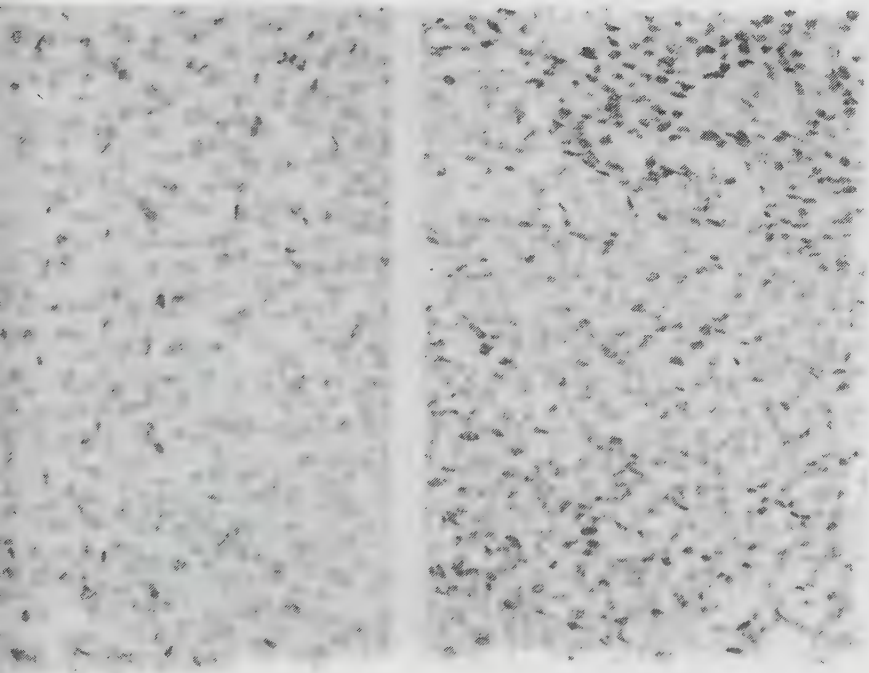


Abb. 1: Epithelkörperchen

(links): Unbehandeltes Muttertier: Überwiegend aus großen hellen Hauptzellen bestehendes Parenchym.

(rechts): Behandeltes Muttertier: Überwiegend aus dunklen und ruhenden Hauptzellen sowie syncytialen Zellen bestehendes Parenchym.

Hämatoxylin-Eosin

400fache Vergrößerung

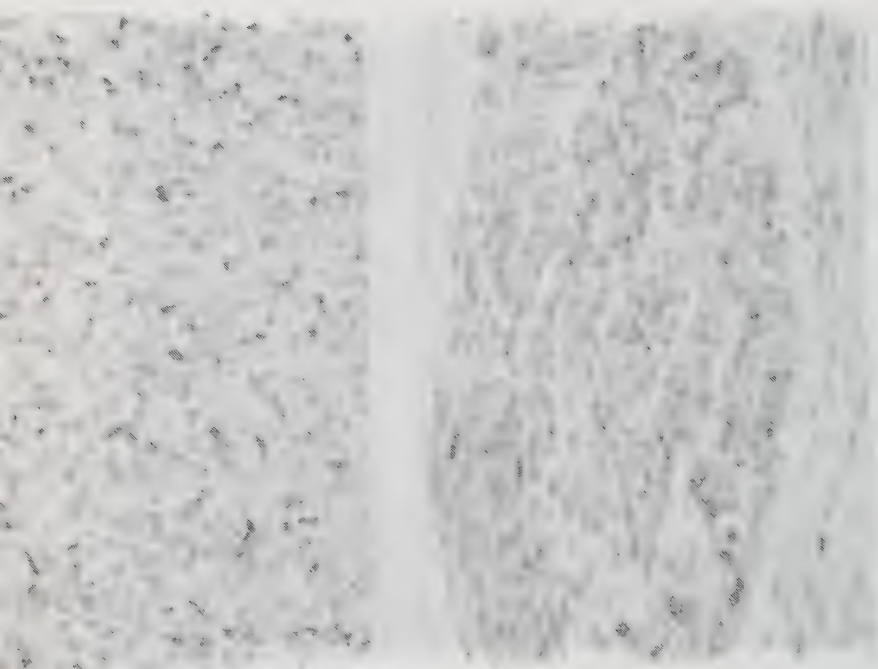


Abb. 2: Epithelkörperchen

(links): Fetus eines unbehandelten Muttertieres: Überwiegend aus hellen und dunklen Hauptzellen bestehendes Parenchym.

(rechts): Fetus eines behandelten Muttertieres: Überwiegend aus dunklen und ruhenden Hauptzellen bestehendes Parenchym.

Hämatoxylin-Eosin

400fache Vergrößerung

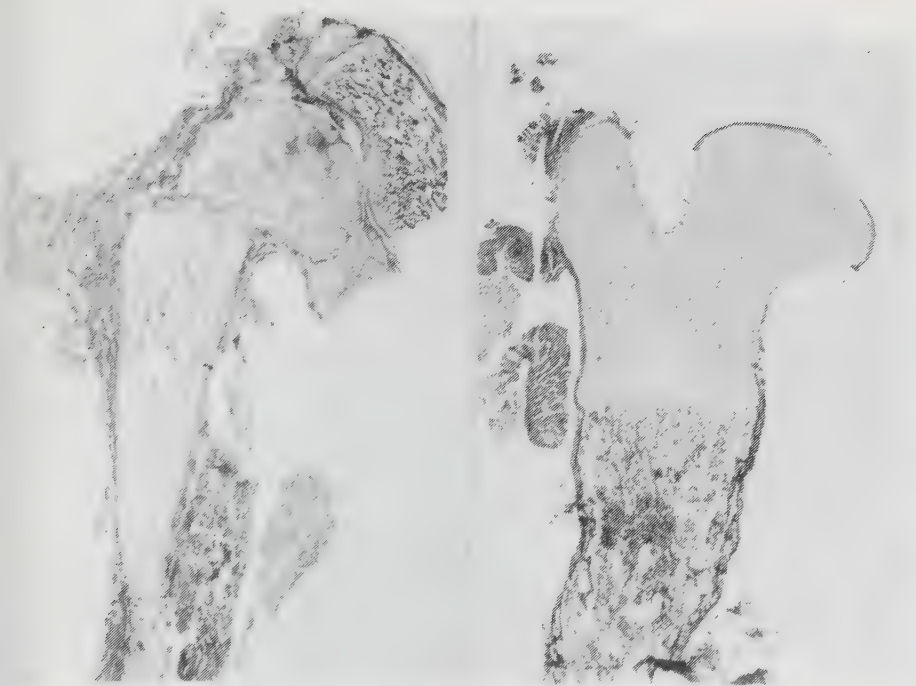


Abb. 3: Proximaler Femur

(links): Fetus eines unbehandelten Muttertieres: Vollständig ossifizierte Diaphyse, territorial gegliederte Epiphyse mit beginnender Differenzierung eines Verknöcherungszentrums.

10fache Vergrößerung

(rechts): Fetus eines behandelten Muttertieres: Proximales Ende der Diaphyse noch knorpelig angelegt, einheitliche Struktur der knorpeligen Epiphyse.

Hämatoxylin-Eosin

25fache Vergrößerung

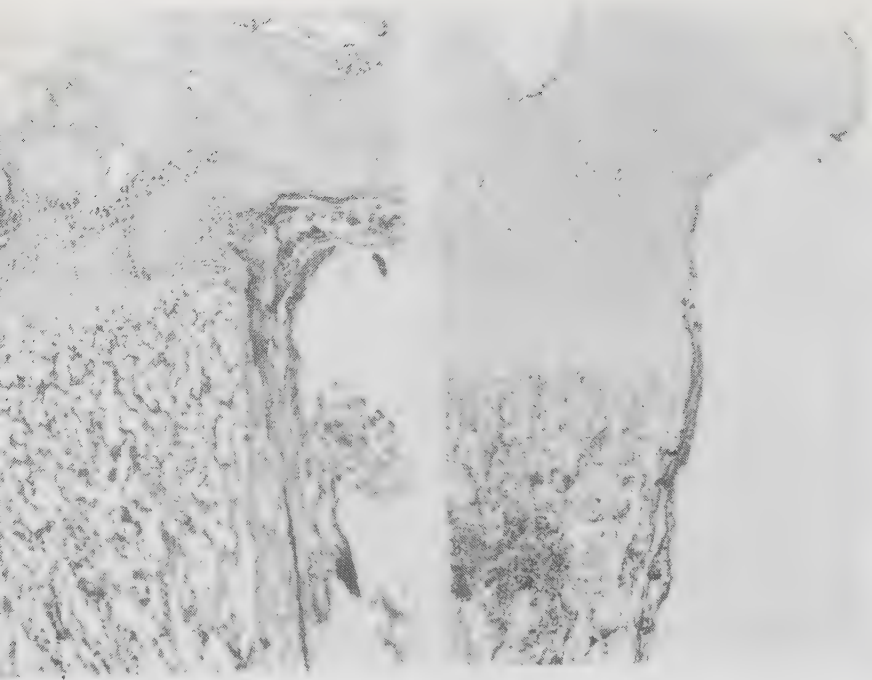


Abb. 4: Proximale Metaphyse des Femur

(links): Fetus eines unbehandelten Muttertieres: Territorial gegliederte Epiphyse, geschlossenes Spongiosagitter in Meta- und Diaphyse, aus mehreren breiten Lamellen bestehende Corticalis.

(rechts): Fetus eines behandelten Muttertieres: Einheitliches zelldichtes epiphysäres Knorpelgewebe, Proliferationszone und Säulenknorpel im Halsbereich, lückenhaftes Spongiosagitter, aus wenigen dünnen Lamellen bestehende Corticalis.

Hämatoxylin-Eosin

40fache Vergrößerung

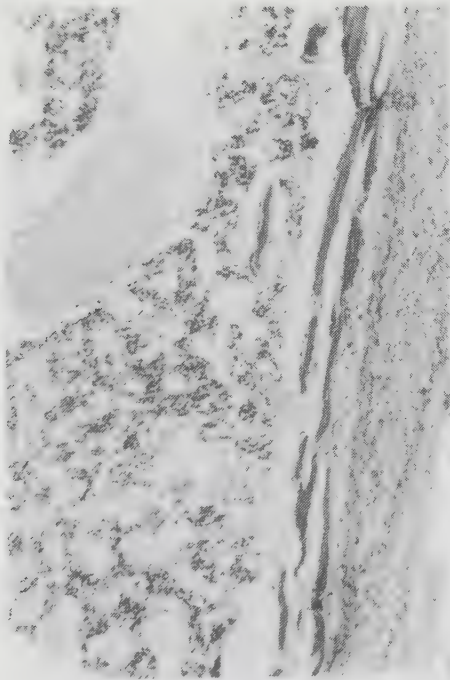


Abb. 5: Längsschnitt durch die diaphysäre Corticalis des Humerus: Fetus eines behandelten Muttertieres:

Aus 2 bis 3 schmalen Tangentiallamellen bestehende Corticalis; vermehrt osteoides Knochengewebe an der periostalen Oberfläche.

Hämatoxylin-Eosin

100fache Vergrößerung

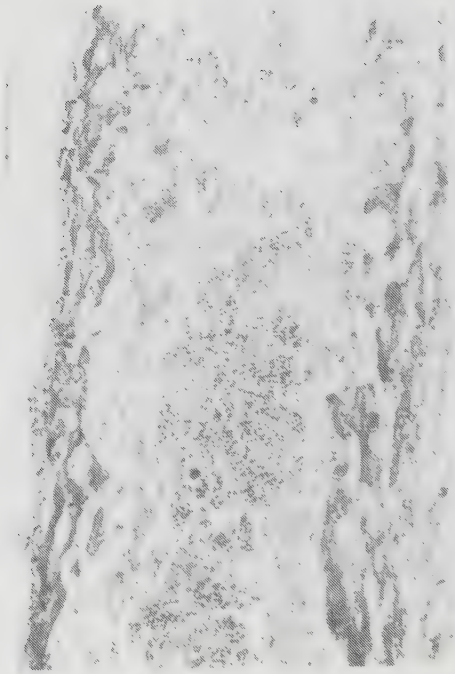


Abb. 6: Längsschnitt durch die diaphysäre Corticalis des Femur: Fetus eines behandelten Muttertieres: Unregelmäßige und nicht vollständig geschlossene lamelläre Struktur der Corticalis, verstärkte Basophilie des Knochengewebes, verstärkter osteoklastischer Abbau an der Innenseite der Corticalis, spongiosabälkchenfreier diaphysärer Markraum.

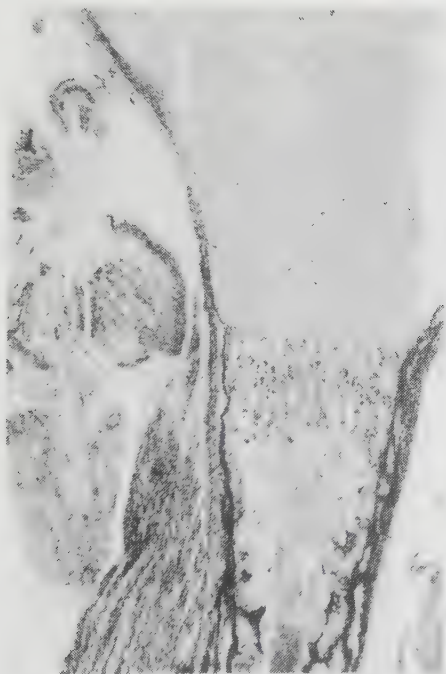


Abb. 7: Längsschnitt durch den proximalen Femur des Fetus eines behandelten Muttertieres: Verminderte Apposition von Knochengewebe an die Knorpelrichtungspfeiler, Abbau der Spongiosa mit bälkchenfreiem diaphysärem Markraum, aus wenigen Lamellenlagen bestehende Corticalis.

Hämatoxylin-Eosin

40fache Vergrößerung

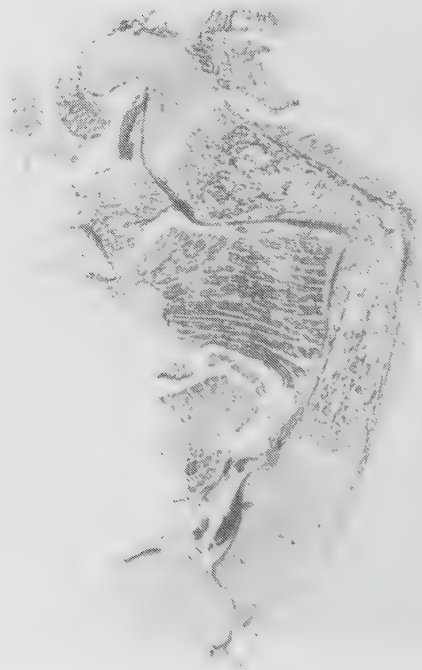


Abb. 8: Grünholzfraktur des Femur: Fetus eines behandelten Muttertieres.

Hämatoxylin-Eosin

10fache Vergrößerung

D I S K U S S I O N

Die bisher vorliegenden Untersuchungsergebnisse über die Beeinflussung der fetalen Entwicklung durch eine chronische Hypervitaminose D der Muttertiere während der Trächtigkeit haben keine Übereinstimmung in der Pathogenese der Entwicklungsstörungen des Skeletts erbracht. Sicherlich ist das zum Teil eine Folge der unterschiedlichen Applikation und Dosishöhe. Andererseits ist es aber auch eine Folge der unterschiedlichen Untersuchungsziele, die auf die Erzeugung einer supravulvulären Aortenstenose, auf das Auftreten von Entwicklungsstörungen vor allem im Bereich des Gesichtsschädels oder auf die Beeinflussung der Skelettentwicklung ausgerichtet waren.

In den vorliegenden Untersuchungen wurden Kaninchen, beginnend am 7. Tag nach dem Deckakt, mit täglichen Dosen von 20.000 I.E. Vitamin D₃ bis zum 26. Tag der Trächtigkeit behandelt. Am 26. Tag erfolgte die Tötung der Tiere.

Der Eintritt einer hyperkalzämischen durch die Hypervitaminose D bedingten Stoffwechsellaage wurde zunächst an den Muttertieren kontrolliert. Alle Muttertiere wiesen die bekannten Veränderungen in Form metastatischer Verkalkungen in Aorta und Nieren auf. Die Epithelkörperchen waren entsprechend der Hyperkalzämie inaktiviert. Im Skelett war übereinstimmend neben der Faserverkalkung und Bildung besonders intensiv basophiler Grundsubstanz eine nachfolgende beginnende Apposition von osteoidem Knochengewebe festzustellen. Die akuten Abbauerscheinungen waren im Abklingen, Hinweis auf vorausgegangene Abbauvorgänge stellte die herdförmige fasrig-fibrozytäre Endostverbreiterung dar. Entsprechend den Befunden von BATHE-PETERS (1977) an Schweinen liegt die Phase der beginnenden Knochengewebsbildung im Zuge des periodischen Absinkens des Serum-Ca-Spiegels vor.

In die Untersuchung war auch die fetale und maternale Plazenta einbezogen worden. Neben metastatischen Kalkablagerungen wurden Zirkulationsstörungen mit Blutungen und Ödemen in den Chorionzotten und in der oberflächlichen Decidua festgestellt, die zu Dissoziation und Nekrobiose der Zellen des chorialen Syncytiums und der Decidua führten. Die Bilder entsprachen dabei einer beginnenden Ablösung, die in vorgeschrittenen Fällen auch Ursache des am 26. Tag der Trächtigkeit erfolgten Aborts bei 4 Muttertieren gewesen sein dürfte. Über gleichartige Alterationen der Plazenta und deren Folgen berichten bei Ratten POTVLIEGE (1962) und TSHIBANGU et al. (1975) sowie bei Kühen CAPEN et al. (1966). ORNOY und Mitarbeiter (1972) diskutieren in diesem Zusammenhang eine direkte Schädigung der Plazenta durch Vitamin D₂.

In Hinblick auf die Organveränderungen bei den Muttertieren, die Folgen der durch die chronische Hypervitaminose D bedingten Hyperkalzämie sind, wurden die Feten dieser Tiere auf das Vorkommen von metastatischen Organverkalkungen, das Verhalten der Epithelkörperchen und auf das Vorkommen von Skelettveränderungen untersucht.

Metastatische Organverkalkungen sind in diesen Versuchen bei keinem Fetus festgestellt worden. Gleichlautende Befunde werden auch im Schrifttum mitgeteilt (POTVLIEGE, 1962; CAPEN et al., 1966). Lediglich POTVLIEGE (1962) versucht das Fehlen metastatischer Verkalkungen bei Feten damit zu interpretieren, daß bei Feten der Grad der Hyperkalzämie niedriger als bei den Muttertieren ist.

Eine Parallelität zwischen Muttertieren und Feten hat sich im morphologischen Bild der Epithelkörperchen ergeben. Die Epithelkörperchen der Muttertiere und der Feten wiesen Anzeichen der Inaktivität auf, die sich in der Zelltransformation zu dunklen und ruhenden Hauptzellen zeigte. Für die Inaktivierung der Epithelkörperchen ist die Hyperkalzämie der Muttertiere und der Feten verantwortlich

(POTVLIEGE, 1962). In gleicher Weise hat auch SINCLAIR (1942) durch eine diätetisch bedingte Hyperkalzämie bei Muttertieren eine Involution der fetalen Epithelkörperchen bei Ratten erzeugen können.

Die Untersuchung des Skeletts wurde bei den Feten an Humerus und Femur durchgeführt. Entwicklungsstörungen des Gesichtsschädels, der Haut oder der Wirbelsäule, entsprechend den Befunden von FRIEDMAN u. MILLS (1969), TSHIBANGU et al. (1975) und ZANE (1976) konnten durch die makroskopische Untersuchung nicht festgestellt werden. Insgesamt fiel aber auf, daß die Feten behandelter Muttertiere kleiner waren als die der Kontrolltiere, ein Befund, der im Schrifttum regelmäßig wiederkehrt und mit einer Unterversorgung der Feten über die regressiv veränderte Plazenta erklärt wird.

In der Pathogenese der an Humerus und Femur untersuchten Skelettveränderungen sind zwei Prinzipien erkennbar. In Abhängigkeit von der hypoplastischen Entwicklung der Feten durch die Plazentaschädigung besteht ein Rückstand in der Skelettentwicklung. Er äußert sich in einer verzögerten Ossifikation der Röhrenknochen und in dem Ausbleiben einer Differenzierung des Epiphysenknorpels für die nachfolgende Verknöcherung. Gleichartige Befunde konnten ORNOY und Mitarbeiter (1969) bei Ratten erheben, wenn die Muttertiere täglich 40.000 I.E. Vitamin D₂ erhalten hatten. Bei 20.000 I.E. waren die Skelettveränderungen wesentlich geringer ausgebildet (ORNOY, 1971). Verzögerungen in der Skelettreifung werden auch von TSHIBANGU u. Mitarbeitern (1975) berichtet. Dagegen fanden FRIEDMAN u. MILLS (1969) eine eher für einen vorzeitigen Wachstumsschluß sprechende Schließung der Fontanellen und Schädelnähte, die bei Kaninchen mit Entwicklungsstörungen des Gesichtsschädels verbunden waren.

Das verminderte Wachstum und die verzögerte Reifung der knorpeligen Skelettanlage ging bei den untersuchten Feten mit einer verminderten Osteogenese einher, die sich in einer mangelhaften Apposition von Knochengewebe an die primären Spongiosapfeiler und in einer nur aus wenigen und unterbrochenen Lamellenlagen bestehenden Corticalis zeigte.

Über diese Veränderungen hinausgehend sind an Humerus und Femur Schädigungen festgestellt worden, die auf die Wirkung der chronischen Hypervitaminose D zurückzuführen sind. In der Chronizität des Ablaufs sind zunächst verstärkte Abbauvorgänge am Knochengewebe festzustellen gewesen, in der zweiten Phase nahm die Anzahl der Osteoklasten erheblich ab und in einer dritten Phase setzte eine geringgradige Neubildung von Knochengewebe ein. Dabei hat der verstärkte Abbau des Knochengewebes zusammen mit der hypoplastischen Knochengewebsbildung die Festigkeit der Röhrenknochen herabgesetzt, so daß bereits intrauterin durch den Muskelzug Spontanfrakturen entstanden sind.

In der Pathogenese der Skelettveränderungen bei Feten von mit Vitamin D in Überdosis behandelten Muttertieren besteht im Schrifttum kein einheitliches Bild. Sicher ist nur, daß sowohl Vitamin D und seine Metabolite als auch Calcium diaplazentar in den Fetus gelangen. Eigenartigerweise wird im Schrifttum dem Übergang des Vitamin D in den Fetus ein höherer Stellenwert zugemessen als den Mineralstoffwechselstörungen. Dabei wird dem Vitamin D eine direkte schädigende Wirkung auf Chondro- und Osteoblasten zugeschrieben und diese entsprechend den Gefäß-, Zahn- und Hautveränderungen sogar auf das gesamte Mesenchym ausgedehnt (ORNOY et al., 1969; TSHIBANGU et al., 1975). ORNOY und Mitarbeiter (1972) sprechen sogar von einer Phänokopie der Osteogenesis imperfecta.

Nach den vorliegenden Untersuchungen an Kaninchenfeten ergibt sich für die Pathogenese der Skelettveränderungen eine andere Interpretationsmöglichkeit. Die verminderte Chondro- und Osteogenese sind Folgen der Plazentaschädigungen, die zu einer Unterversorgung des Fetus geführt haben. Daran schließen sich die Skelettveränderungen an, die Folge der chronischen Hypervitaminose D sind. Der diaplazentare Übergang von Vitamin D und seiner Metabolite löst das erste Stadium der Skelettveränderungen aus, das durch einen verstärkten Abbau des Knochengewebes gekennzeichnet ist. Der Überschuß an 25-Hydroxycholecalciferol induziert zusammen mit dem Parathormon den Knochengewebsabbau. Das 1,25-Dihydroxycholecalciferol hat im Fetus keine Wirkung, da noch keine enterale Ca-Resorption stattfindet. Daher kann im Fetus die hyperkalzämische Stoffwechsellage nur diaplazentar über die Hyperkalzämie des Muttertieres entstehen. Die fetale Hyperkalzämie inaktiviert die Epithelkörperchen und aktiviert das C-Zellensystem, so daß der Knochengewebsabbau vermindert wird. Dabei besteht eine Parallelität zum Muttertier, bei dem durch diesen Metabolismus der Ca-Spiegel absinkt und einen erniedrigten Ca-Spiegel im Fetus nach sich zieht. Entsprechend ist im fetalen und maternalen Skelett zum Zeitpunkt der Untersuchung die Abbauphase durch eine in Gang gekommene reduzierte Neubildung von Knochengewebe gekennzeichnet. Aufgrund dieser Regulationsmechanismen besteht bei der chronischen Hypervitaminose D ein periodischer Wechsel zwischen hyperkalzämischen und normokalzämischen Zuständen, wie BATHE-PETERS (1977) bei Schweinen nachweisen konnte. Für die Richtigkeit dieser Interpretation sprechen die synchronen Veränderungen des Skeletts bei den Muttertieren und Feten und die Beobachtungen von ORNOY u. Mitarbeitern (1969), daß bei Ratten nach einer ausgeprägten Hyperkalzämie am 21. Tag der Trächtigkeit der Ca-Spiegel im Serum absinkt. In dieser Phase müssen sich auch die Kaninchen am 28. Tag der Trächtigkeit befunden haben.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Kaninchen wurden, beginnend am 7. Tag nach dem Deckakt, mit täglichen Dosen von 20.000 I.E. Vitamin D₃ bis zum 26. Tag der Trächtigkeit behandelt. Danach erfolgte die Tötung und morphologische Untersuchung der Muttertiere und Feten.

Die Muttertiere zeigten metastatische Verkalkungen in Aorta, Nieren und Plazenta. Im Skelett bestanden Veränderungen, die durch abklingenden Knochengewebsabbau und beginnende Neubildung von Knochengewebe gekennzeichnet waren. Die Epithelkörperchen waren bedingt durch die hyperkalzämische Stoffwechsellaage inaktiviert.

Die Feten waren hypoplastisch. Die Epithelkörperchen erschienen inaktiv. Metastatische Verkalkungen konnten nicht nachgewiesen werden. Die Skelettveränderungen entwickelten sich aus zwei Ursachenkomplexen. Infolge der Plazenta-schädigungen kam es zur Unterversorgung der Feten, die am Skelett sich als verminderte Osteogenese und Chondrogenese manifestierte. Als direkte Folge der Hypervitaminose D wurde synchron mit den Skelettveränderungen der Muttertiere ein abklingender Knochengewebsabbau und Übergang in die Phase einer reduzierten Knochengewebsbildung beobachtet. Die Abbauphase wird mit der direkten Wirkung des 25-Hydroxycholecalciferols unterstützt durch Parathormon erklärt, gefolgt von einer über die maternale Hyperkalzämie entstandenen hyperkalzämischen Stoffwechsellaage im Fetus, die Epithelkörperchen inaktiviert und C-Zellensystem aktiviert, so daß der Knochengewebsabbau im fetalen Skelett sistiert. Parallel dazu wird bei den Muttertieren ein Absinken des Serum-Ca-Spiegels zu diesem Zeitpunkt durch die gleichen Regulationsvorgänge angenommen.

S U M M A R Y

Rabbits were treated with daily doses of 20.000 IU vitamin D₃ starting on the 7th day after they had been put together and continuing until the 26th day of pregnancy. This was followed by the killing and morphological examination of the mother-animals and Foetus (foeti).

The mother-animals showed metastatic calcification in the aorta, kidney and placenta. In the skeleton changes were observed in the form of a disintegration of the bone tissue and the beginning of a new bone tissue formation. The parathyroid gland was inactivated due to hypercalcaemic metabolic situation.

The foeti were hypoplastic. The parathyroid appeared inactive. Metastatic calcification could not be established. The changes in the skeleton took place as the result of two processes. The damage to the placenta lead to under-supplying of the foetus which could be seen in reduced osteogenesis and chondrogenesis in the skeleton. Due to the hypervitaminosis D gradual disintegration of the bone tissue of the mother animals could be observed which passed into a phase of reduced bone tissue formation.

The disintegration phase is explained to be the direct effect of 25-Hydroxycholecalciferol supported by parathermon. This is followed by a hypercalcaemical metabolic situation in the foetus arising from maternal hypercalcaemia which inactivates the parathyroid and activates the C-cells system so that the disintegration of the bone tissue is inhibited.

Parallel to this a lowering of the serum calcium mirror in the foeti of the mother animals due to the same regulative action is at present assumed to take place.

LITERATURVERZEICHNIS

- ALTENÄHR, E. u. H. LIETZ (1970):
Vergleichende experimentelle Untersuchungen
zur Ultrastruktur von Epithelkörperchen und
C-Zellen der Schilddrüse bei verschiedenen
Funktionszuständen.
Verh.dtsch.Ges.Path. 54, 360-367.
- American Institute of Health (1968):
In: AMMON, R. u. W. DIRSCHERL
Fermente, Hormone, Vitamine. 3. Aufl.,
Bd. III/I S. 222-327.
Georg-Thieme Verlag Stuttgart.
- BATHE-PETERS, H.J. (1977):
Die Beeinflussung der experimentellen chro-
nischen D₃ Hypervitaminose bei Schweinen durch
Exstirpation des thyreoidalen C-Systems.
Dissertation, Berlin, Journal-Nr. 914.
- BEKEMEIER, H. u. G. PFENNIGSDORF (1974):
Die antirachitischen Vitamine (Calciferole).
In: AMMON, R. u. W. DIRSCHERL
Fermente, Hormone, Vitamine. 3. Aufl.,
Bd. III/1, S. 222-327.
Georg Thieme Verlag Stuttgart.
- BEUREN, A.J.; APITZ, J.; STOERMER, J.; KAISER, B.;
SCHLANGE, H.; BERG, W.; and JORGENSEN, G.
(1966):
Vit. D hyperkalzämische Herz- und Gefäß-
erkrankung.
Mschr. Kinderheilk., 114: 457.
- CAPEN, CH. C., COLE, C. und HIBBS (1966):
The pathology of hypervitaminosis D in cattle.
Path. vet. Basel 3 (Nr. 4), 350-378.
- CAPEN, C.C., A. KOESTNER u. C.R. COLE (1965):
The ultrastructure, histopathology, and
histochemistry of the parathyroid glands
of pregnant and nonpregnant cows fed a
high level of vitamin D.
Lab.Invest. 14, 1809-1825.

CENTANNI (1930):

In: AMMON, R. u. W. DIRSCHERL
Fermente, Hormone, Vitamine. 3. Aufl.,
Bd. III/I, 308-320.
Georg Thieme Verlag Stuttgart.

COLLAZO, J.A., P. RUBINO u. B. VARELA (1930):

Knochenbildung und Wachstumsstörungen
bei der Hypervitaminose D.
Virchows Arch.path.Anat. 274, 281-293.

COOPER, C.W., L.J. DEFTOS u. J.T. POTTS (1971):

Direct measurement of in vivo-secretion
of pig thyrocalcitonin by radioimmunoassay.
Endocrinology 88, 747-754.

DÄMMRICH, K. (1963):

Experimentelle D₃-Hypervitaminose bei
Ferkeln.
Zbl. Vet.-Med. A, 10, 322-349.

FRIEDMAN, W.F. and MILLS, L.F. (1969):

The relationship between vit. D and the
craniofacial and dental anomalies of the
supravalvular aortic stenosis syndrome.
Pediatrics 43: 12.

FRIEDMAN, W.F., ROBERTS, C.W. (1966):

Vit. D and the supravalvular aortic stenosis
syndrome. The transplacental effects of
vit. D on the aorta of the rabbit.
Circulation 34: 77.

HACHMEISTER, U. (1968):

Wirkung von Thyreocalcitonin am Erfolgsorgan
Knochen.
In: Nebenschilddrüse und endokrine Regula-
tionen des Kalziumstoffwechsels, Spontan
Hypoglykämie, Glucagon.
14. Symposium der deutschen Gesellschaft
für Endokrinologie in Heidelberg vom
7.-9. März 1968, S. 93-94.
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York.

- HACHMEISTER, U., J. BÖNICKE, M. LENKE u. J. KRACHT
(1967):
Die C-Zellen der Rattenschilddrüse bei
Hyper- und Hypokalzämie.
In: Das Testosteron. Die Struma.
13. Symposium der deutschen Gesellschaft
für Endokrinologie in Würzburg vom 2.-4.
März 1967, S. 268-271.
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York.
- LIETZ, H. (1970):
Zur Ultrastruktur der C-Zellen in der
Ratten-Schilddrüse bei gestörtem Kalzium-
stoffwechsel.
Virchows Arch.path.Anat. Abt. A, 350,
136-149.
- ORNOY, A. (1971):
Transplacental effects of cortisone and
vitamin D2 on the osteogenesis and ossi-
fication of fetal longbone in rats.
Israel J.med.Sci. 7, 540-543.
- ORNOY, A.; KASPI, T.; NEBEL, L. (1972):
Persistent defects of bone formation in
young rats following maternal hyper-
vitaminosis D2.
Israel J.Med.Sci. 8, 943-949.
- ORNOY, A.; MENCZEL, J. and NEBEL, L. (1967):
Alterations in the mineral composition and
metabolism of rat fetuses and their placenta
induced by maternal hypervitaminosis D₂.
Israel J.Med.Sci. 4, 827.
- ORNOY, A.; NEBEL, L. and MENCZEL, J. (1969):
Impaired osteogenesis of fetal long bones
induced by maternal hypervitaminosis D2.
Arch.pathol. 87, 563.
- POTVLIEGE (1962):
Hypervitaminosis D2 in gravid rats.
Arch.Path. 73, 371.

SIMONART, A. (1967):

Vit. D In: Pharmacodynamie et therapeutique 7th ed (Simonart, A., ed.), p. 118, Editions Arscia S.A. Bruxelles et librairie Maloine S.A., Paris.

SINCLAIR, J.G. (1942):

Fetalrat parathyroids as affected by changes in maternal serum calcium and phosphorus through parathyroidectomy and dietary control.

J.Nutr. 23, 141.

TSHIBANGU, K.; OOSKERWIJCK, K.; DOUMONT MEYVIS, M.

(1975):

Effects of massive doses of ergocalciferol plus cholesterol on pregnant rats and their offspring.

J.Nutr. 105, 741-58.

YOUNG, D.M. u. C.C. CAPEN (1971):

Fine structural alterations of thyroid c cells in response to diet-induced hypocalcaemia and vitamin D in adult cows.

Virchows Arch. B Zellpathologie, 8, Fasc. 4, 288-298.

YOUNG, D.M. u. C.C. CAPEN (1970):

Thyrocalcitonin content of thyroid glands from cows with vitamin D-induced hypercalcaemia.

Endocrinology 86, 1463-1466.

ZANE, C.E. (1976):

Assessment of Hypervitaminosis D during the first trimester of pregnancy on the mouse embryo.

Arzneim.Forsch., 26, 1589-90.

LEBENS LAUF

Am 8.10.1945 wurde ich, Magdi Hassan Hafiz Kadri, Sohn des Hassan Hafiz Kadri, in Kairo geboren. Dort besuchte ich die Grundschule von 1950 - 1955, die "Primary"-Schule von 1955 - 1959 und die "Secondary"-Schule von 1960 - 1963. Im August 1963 bestand ich das Abitur.

Im gleichen Jahr wurde ich zum Studium an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität in Kairo zugelassen. Nach 11 Semestern schloß ich im Februar 1969 mein Studium mit dem Staatsexamen ab.

Von 1969 - 1974 arbeitete ich als Wissenschaftlicher Assistent am Institut für Veterinär-Pathologie der Universität Kairo. Im Jahr 1972 schloß ich meine Masterarbeit mit der Prüfung als Master-Vetrinary Science (M.Vet.Sc.) ab.

Im April 1974 erhielt ich ein ägyptisches Stipendium, um in der Bundesrepublik Deutschland zu promovieren. Von April 1974 - 1976 legte ich verschiedene Deutschprüfungen ab und studierte 3 Semester Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin (im April 1977 mit dem Examen regorosum beendet). Im November 1974 begann ich mit der praktischen Arbeit im Institut für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin.

Am Schluß dieser Arbeit möchte ich Herrn Professor Dr. K. DÄMMRICH für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, für die Überlassung des Themas, für die Unterstützung und seine Ratschläge herzlich danken.

Daneben gilt besonderer Dank Frau ILGMANN und Frau KLUSSMANN für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Ebenfalls bin ich allen Mitarbeitern dieses Hauses zu Dank verpflichtet.

